Untersuchungen über die Anthocyane

insbesondere

Ueber den Farbstoff der Kornblume

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Universität Basel

vorgelegt von

Arthur Ernest Everest, M. Sc.

aus Reading (England)

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Basel
Buchdruckerei R. G. Zbinden
1914

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546707_0165

Untersuchungen über die Anthocyane

insbesondere

Ueber den Farbstoff der Kornblume

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Universität Basel

vorgelegt von

Arthur Ernest Everest, M. Sc.

aus Reading (England)

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Basel
Buchdruckerei R. G. Zbinden
1914

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. H. Rupe und Dr. Fr. Fichter.

Basel, den 3. Dezember 1913.

E. Hoffmann-Krayer,
Dekan.

Diese Dissertation erschien in erweiterter Form in Justus Liebig's Annalen der Chemie, Band 401, p. 189—232.

Geboren bin ich, Arthur Ernest Everest, am 5. März 1888 zu Shrewsbury, England, als Sohn des verstorbenen Joseph Everest und dessen Ehefrau Stattie Sophia, geb. Hawtin daselbst. Von 1902 an besuchte ich Wellington College, Salop, wo ich 1905 die Matriculations-Prüfung und 1906 die Intermediate Science Examination (Naturwissenschaftliche Intermediatprüfung) der Universität London bestand. Von 1906 bis 1908 studierte ich an der Universität Birmingham und arbeitete von 1908 bis 1911 in dem dortigen Chemischen Laboratorium. Ich hörte Vorlesungen der Herren: Dr. P. F. Frankland, F. R. S., Dr. A. Findlay, Dr. H. McCombie, Dr. C. K. Tinkler, und nahm an den Laboratoriumsübungen der Herren Findlay und McCombie teil. 1908 erhielt ich den Priestley Forschungspreis (Priestley Research Scholarship in Chemistry), der mir 1909 und 1910 erneuert wurde. Auf Vorschlag der Universität Birmingham verlieh mir die Königliche Kommission (Royal Commissioners) den 1851 Preis („1851 Exhibition Science Research Scholarship"). Daraufhin war ich 1911 bis 1912 an der Technischen Hochschule Zürich und von 1912 bis 1913 an dem Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem, unter Leitung des Herrn Professor Dr. R. Willstätter mit vorliegender Untersuchung beschäftigt. Zur Zeit bin ich Dozent der Chemie (Lecturer in Chemistry) an dem University College, Reading.

In Birmingham erwarb ich 1908 den B. Sc. Grad (Bachelor of Science) und 1910 den Grad als Master of Science. Veröffentlicht habe ich:

„Optical Activity and the Asymmetric atom."
Chem. News, 1909, 100, 295.

„The formation of Glyoxalines from acyl derivatives of α-keto-β-anilino-α β-diphenyl-ethane."
Everest & McCombie, J. C. S., 1911, 99, 1746.

„The effect of heat on a mixture of benzaldehydecyanohydrin and aniline."

Everest & McCombie, J. C. S., 1911, 99, 1752.

„The molecular configuration of 1-methyl-cyclohexanone-4-acetic acid and of the oxime of 1-methyl-cyclohexanone."

Proc. Chem. Soc., 1911, 27, 285.

„Untersuchungen über die Anthocyane, I. Ueber den Farbstoff der Kornblume."

R. Willstätter & A. E. Everest, Annalen, 1913, 401, 189.

Allen meinen Lehrern, vorzüglich aber den Herren Professor Dr. P. F. Frankland und Professor Dr. R. Willstätter sage ich für wissenschaftliche Förderung und freundliche Anteilnahme herzlichsten Dank.

Vorliegende Untersuchungen wurden im chemisch-analytischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich in der Zeit vom Oktober 1911 bis Juli 1912 und im Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem vom Oktober 1912 bis Juli 1913 ausgeführt.

Herrn Prof. Dr. Richard Willstätter,

meinem hochverehrten Lehrer, auf dessen Veranlassung diese Arbeit ausgeführt wurde, spreche ich für seinen wertvollen Rat und seine reiche Anregung meinen herzlichsten Dank aus.

Theoretischer Teil.

Zur Geschichte.

Zum ersten Mal hat F. S. Morot[1]) im Jahr 1849 den Farbstoff der Kornblume zu isolieren versucht, indem er einen wässerigen Auszug der frischen Blüten mit Alkohol fällte. Er erhielt den sehr leicht zersetzlichen Farbstoff nur ganz unrein und betrachtete ihn als stickstoffhaltig. Bald nachher untersuchten E. Frémy und Cloëz[2]) das Anthocyan der Kornblume, des Veilchens und der Schwertlilie, das sie als Cyanin bezeichneten. Sie extrahierten die Blüten mit siedendem Alkohol und bemerkten, dass die blaue Farbe der Flüssigkeit, nach ihrer Annahme infolge von Reduktion, bald verschwinde, dass sie aber nach nicht zu langer Berührung mit dem Alkohol beim Eindampfen wiederkehren. Durch Fällen mit Bleiacetat und Zerlegung des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff erhielten sie bläuliche Flocken einer nicht krystallisierbaren Substanz, die sie nicht analysiert haben. Zu reineren Präparaten des Pigmentes sind Frémy und Cloëz nicht gelangt. In dem Farbstoff der Rose, Pæonie, Dahlie und anderer Blüten vermuteten diese Forscher dasselbe Cyanin.

Sechzig Jahre sind vergangen, in denen die chemische Untersuchung des Farbstoffes blauer Blüten keinen Fortschritt gemacht hat und auch die Literatur über die roten Blütenfarbstoffe sehr arm geblieben ist. Es scheint, dass die grosse Zersetzlichkeit des Anthocyans von seiner Untersuchung abgeschreckt hat.

In der jüngsten Zeit hat aber eine mikroskopische Untersuchung des Botanikers H. Molisch[3]) wertvolle Anregungen für die Bearbeitung dieses Gebietes gegeben. Molish hat nämlich in Blüten und roten Blättern bei einer beträchtlichen Anzahl von Pflanzen beobachtet, dass das Anthocyan „nicht bloss im Zellsaft gelöst,

[1]) Anm. d. Sciences nat. (3), 13, 160 (1849/1850).

[2]) Journ. f. prakt. Chem. 62 (1854).

[3]) Botan. Zeitg. 63, 145 (1905).

sondern auch in fester Form ausgeschieden vorkommt, entweder krystallisiert oder in amorph erscheinenden Ballen". Bei einigen Pflanzen ist es Molisch gelungen, auch ausserhalb der Zellen mikroskopische Krystallisationen des Anthocyans abzuscheiden: ein Blumenblatt wurde mit Wasser oder mit Essigsäure zerdrückt und die Lösung unter dem Deckglas verdunstet. Bei dem Versuch mit frischen Pelargonien- und Rosenblüten traten unter dem Rande des Deckgläschens rote Kristalle auf. Molisch bespricht die Literatur über die Anthocyane und hält diese Pigmente für eine Gruppe von mehreren verschiedenen, wahrscheinlich verwandten Verbindungen; gewisse Anthocyane scheinen ihm zu den stickstoffreien Glucosiden zu zählen.

Unter dem Einfluss dieser Arbeit hat V. Grafe[1]) im Wiener pflanzenphysiologischen Institut eine eingehende Untersuchung über die roten Anthocyane der Malve (Stockrose, Althæa rosea) und der Pelargonie (Pelargonium zonale) ausgeführt. Nach erfolglosen Versuchen mit dem Farbstoff des Rotkrauts und mit dem Anthocyan der Rose arbeitete Grafe über den Malvenfarbstoff, mit dem sich schon R. Glan nicht ganz ohne Erfolg beschäftigt hatte. Nach Grafe soll das Anthocyan der Stockrose aus einem Glucosid von der Formel $C_{20}H_{30}O_{13}$ und einer zuckerfreien Verbindung von der Formel $C_{14}H_{16}O_6$ bestehen. Indessen erkennt man leicht nach einer in Folgenden beschriebenen Reaktion, dass die Blüte von Althæa den Farbstoff in seiner ganzen Menge als Glucosid enthält.

Eine folgende Untersuchung von Grafe behandelt das Pelargonien Anthocyan, das Grafe auf verschiedene Arten, namentlich durch eine Uebertragung des Verfahrens von Molisch in den präparativen Masstab darstellt. Auch hier erhält und beschreibt Grafe zwei Farbstoffe, einen krystallisierten zuckerfreien von der Formel $C_{18}H_{26}O_{13}$ und ein amorphes Glucosid von der Formel $C_{24}H_{44}O_{20}$. Aber wieder ist Grafe im Irrtum. In Wirklichkeit enthält die Pepargonienblüte das Pigment ausschliesslich in der Form von Glucosid und gerade die von Grafe als zuckerfrei betrachtete Verbindung ist zufolge meiner Nachprüfung ein Glucosid, obwohl sie nach Grafe aus amorphem Glucosid nach der Gleichung:

$$C_{24}H_{44}O_{20} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + (C_{18}H_{34}O_{15})$$
$$(C_{18}H_{34}O_{15}) - 4\,H_2O + O_2 = C_{18}H_{26}O_{13}$$

[1]) Sitzungsber. Wien. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl. 115, 975; 118 1033; 120, 765.

hervorgegangen sein soll. Die krystallisierte Verbindung soll nach Grafe 2 Mole Krystalleisessig enthalten, aber sie ist richtiger als essigsaures Salz zu interpretieren.

Auch dieser Arbeit von Grafe über den Pelargonienfarbstoff ist eine Untersuchung vorangegangen, die A. B. Griffiths[1]) im Jahre 1903, also noch vor der Mitteilung von Molisch veröffentlicht hatte. Griffiths gewann aus der Geranienblüte durch ausziehen mit 90 %igem Alkohol den Farbstoff; durch verdampfen des Extraktes, Aufnehmen des Rückstandes mit absolutem Alkohol und erneutes Abdampfen beendete er die Isolierung. Der krystallinische Rückstand entsprach der Formel $C_{15}H_{10}O_6$. Auch die Pigmente von Helianthus und Verbena erwähnt Griffiths; sie enthielten Stickstoff und Schwefel, waren also gewiss sehr unrein.

Auf die Frage der Glucosidnatur der Anthocyane bezieht sich eine gründlichere Arbeit, in welcher R. Heise[2]) schon vor diesen Studien über die Blütenfarbstoffe die Pigmente des Rotweins und besonders die der Heidelbeere untersucht hat, allerdings ohne abschliessende Ergebnisse hinsichtlich der Zusammensetzung der Farbstoffe.

In der Heidelbeere finden sich nach Heise zwei rote Farbstoffe, die in armorphem Zustand beschrieben werden. Den in grösserer Menge vorkommenden betrachtet Heise als ein Glucosid von der Formel $C_{20}H_{24}O_{12}$; er gibt bei der Spaltung mit Säure den zweiten Farbstoff von der Formel $C_{14}H_{14}O_7$, der auch in der Beere neben dem Glucosid auftreten soll. Diesen zuckerfreien Farbstoff stellte Heise nach seiner Löslichkeit, seinem Verhaltem gegen Salzsäure und gegen schmelzendes Aetzkali zu den als „Phlobaphene“ bezeichneten rotbraunen Rindenfarbstoffen.

Die Angaben über das Vorkommen der beiden Pigmente in der Beere müssen richtig gestellt werden, wie oben die Mitteilungen über zuckerhaltiges und zuckerfreies Anthocyan aus Blüten. Die Heidelbeere enthält den Farbstoff nur als Glucosid und dieses ist noch nicht in reinem Zustand bekannt.

Auch über die Anthocyane der Blätter sind nur wenige vorläufige Ermittelungen bekannt geworden. R. Combes[3]) gibt an, dass

[1]) Ber. 36, 3959.

[2]) Arb, aus den Kais, Gesundheitsamt 5, 618 (1889), und 9, 478 (1894).

[3]) Compt. Rend. 150, 1186 (1910) und 886 (1911).

er aus dem herbstlichen Laub von Ampelopsis hederacea eine in rote Nädelchen krystallisierende, aus den noch grünen Blättern eine hellbraune Substanz isoliert habe, ohne Mitteilungen über seine Verfahren und über die Zusammensetzung der Produkte zu machen.

Während nach der Anschauung von Combes die Anthocyane nicht durch eine einfache Oxidation aus zuvor in den Blättern vorhandenen farblosen Verbindungen hervorgehen, entwickelt M. Wheldale[1]) in gründlichen Untersuchungen die entgegengesetzte Auffassung, nach welcher die Anthocyane Oxydationsprodukte von Leukoverbindungen wären, die in der Pflanze als Glucoside vorkämen und bei der Farbstoffbildung in Zucker und Chromogene zerfielen.

Zur Beschreibung des Anthocyans der Kornblume.

Wir haben eine Anzahl von Anthocyanen vergleichend betrachtet und zuerst das der Kornblume wegen seiner schönen, ziemlich rein blauen Farbe und wegen seines merkwürdigen Verhaltens eingehender zu untersuchen begonnen. Der Farbstoff ist schwer zu isolieren und unbeständig; er ist bisher selbst unter dem Mikroskop noch nicht in krystallinischen Zustand beobachtet worden.

Die Kornblume enthält in ihren Randblüten hauptsächlich blauen Farbstoff; in den Scheibenblütchen fast nur eine violette Form derselben, nicht rein, sondern bald mehr rotviolett, bald blauviolett. Die Farbe der inneren Kronenblätter vertieft sich von einem hellen Rotviolett zu Violett und an den Spitzen bis zu Violettblau.

Um diese Erscheinungen hervorzurufen, bedarf es in der Kornblume nur eines einzigen Farbstoffes, der in der Blüte in verschiedenen Zutsänden vorkommt.

Neben der blauen und der violetten Modifikation gibt es noch eine farblose, die auch in der Blüte aufzutreten scheint, und ferner eine rote Form, die seltener, unter besonderen Wachstumsbedingungen, in der Kornblume angetroffen wird.

Die blaue Modifikation ist das Kalium-Salz einer Säure. Die violette Modifikation ist die freie Säure. Für diese soll der alte Name *Cyanin* angewandt werden.

---

[1]) Proc. Roy. Soc., B, 81, 44 (1909); Proc. Camb. Phil. Soc. 15, 137 (1909); Journ. of Genetics 1911, 1, 133.

Die rote Modifikation ist eine Verbindung des Cyanins, nämlich ein Oxoniumsalz, mit irgend einer stärkeren Säure, in der Blüte mit Pflanzensäure, bei der Darstellung für die Analyse zweckmässig mit Salzsäure.

Das Cyanin isomerisiert sich zu einer farblosen Modifikation, welche gleichfalls sauer ist und wie das Cyanin Metallsalze bildet. Es gibt daher ausser der farblosen Form des violetten auch ein farbloses Derivat des blauen Farbstoffs.

Die Kornblume bietet bis jetzt eine viel weniger veränderliche Erscheinung als zahlreiche andere Blüten. Ihr genauer beschriebenes Beispiel zeigt, mit welchen chemischen Mitteln die Variationen der Blütenfarben zu Stande kommen. Es handelt sich allgemein im Wesentlichen um drei Verbindungsformen: die rote bei Anwesenheit überschüssiger Säure im Zellsaft, welche mit der Sauerstoffbase ein Salz bildet; die violette d. i. die Farbsäure in freier Form; die blaue d. i. ein Alkalisalz, auftretend in hinlänglich alkalischem Zellsaft.

Das Anthocyan der Kornblume wird von Wasser extrahiert; die tiefblaue Lösung entfärbt sich rasch. Diese Veränderung beruht nicht auf einer Zersetzung, auch nicht, wie früher Frémy und Cloëz und noch in jüngster Zeit, P. Q. Keegan[1]) angenommen haben, auf einer Reduktion des Farbstoffes. Beim Ansäuern wird die farblos gewordene Lösung auch nach langem Stehen ebenso rot wie die blaue.

Auch die rote Modifikation entfärbt sich, aber nur beim Fehlen von überschüssiger Säure, in verdünnter wässeriger oder alkoholischer Lösung.

Beim Abstumpfen mit Calciumcarbonat wird die saure Cyaninlösung rein violett: die violette Flüssigkeit erleidet gleichfalls rasch Umwandlung in den farblosen Zustand.

Beim Abdampfen oder starkem Einengen der farblosen Lösung kehrt die ursprüngliche Farbe, die blaue, rote oder violette, zurück.

Bei der Neutralisation mit Soda schlägt die frische rote Farbstofflösung in schönes Blau um, die beim Stehen aber Grün wird.

Manche Blüten z. B. gewisse violette Sorten von Rittersporn, liefern einen wässerigen Extrakt, dessen Farbe bei gewöhnlicher Temperatur beständig ist. Andere Blüten hingegen geben weit unbeständigere Anthocyanlösungen, die nicht durch Isomerisation.

[1]) Chem. News. 107, 181 (1913).

sondern durch Zerstörung des Farbstoffes verblassen, vielleicht durch eine enzymatische Oxidationswirkung z. B. Mohn, Eisenhut, Aster. In solchen Fällen kann man mit säurehaltigem Wasser das Anthocyan unversehrt extrahieren, manchmal auch mit heissem Wasser (Mohn).

Weder aus sauerer, neutraler, noch aus alkalischer Lösung gehen die Anthocyane in organische Lösungsmittel über (z. B. in Aether, Chloroform, Amylalkohol etc.).

Gruppen der Anthocyane.

Die durch Wasser oder wasserhaltigen Alkohol extrahierbaren ätherunlöslichen blauen, violetten und roten Farbstoffe der Blüten, vieler Früchte und mancher Blätter heissen Anthocyane. Von früheren Autoren z. B. von L. Weigert[1]), ist es versucht worden, sie nach dem Verhalten gegen basisches Bleiacetat und nach einigen anderen Erscheinungen der Salzbildung in zwei Gruppen (Weinrot- und Rübenrotgruppe) einzuordnen; es wäre aber schwierig, eine so einfache Abgrenzung scharf durchzuführen und es müssten sehr verschiedene Pigmente zu einer Gruppe zusammengefasst werden. Eher liessen sich ausser dem ziemlich vereinzelt stehenden Pigment der roten Rübe, das am meisten von den übrigen Anthocyanen differiert, noch zwei Gruppen nach dem verschiedenen Verhalten gegen Natriumcarbonat unterscheiden. Die angesäuerte Lösung gewisser Anthocyane wird mit Soda blau oder, wenn der Extrakt auch gelbe Blütenfarbstoffe enthält, blaugrün. Mit überschüssigen Alkali-Carbonat, viel schneller mit Alkalihydroxyd, schlägt die Farbe in grün und weiter in gelb um. Hingegen wird die sauere Lösung anderer Anthocyane beim Neutralisieren mit Soda grünlichrot, violettstichig rot oder violett, mit mehr Alkali gelb. Aber auch einige derartige Einteilung wäre willkürlich und unzureichend. Allein nach den Farberscheinungen in sauerer, in schwach alkalischer Lösung und beim Fällen mit Bleiacetat lassen sich schon zahlreichere Gruppen von Anthocyanen unterscheiden. Vielleicht sind manche vorläufig nach ihrer Herkunft unterschiedene Pigmente identisch, doch kann man zu jeder Gruppe Beispiele stellen, die nach ihren Reaktionen nicht übereinstimmen, aber näher verwandt

[1]) Jahresber. d. önolog. und pomolog. Lehranstalt Klosterneuburg, 1895.

sind als die Vertreter verschiedener Gruppen. Es gibt also in den leicht zugänglichen Pflanzenstoffen eine erhebliche Zahl verschiedener Anthocyane.

Anthocyane von Kornblume, Rose, Lathyrus.

In sauerer Lösung rot, mit Soda blau, von Bleiacetat blau gefällt; der Farbstoff isomerisiert sich zu einer farblosen Modifikation.

Anthocyane der Weintraube, Heidelbeere, von Feldrittersporn.[1])

In sauerer Lösung rot, mit Soda blau, Bleisalz blau, der Farbstoff entfärbt sich nicht.

Anthocyane von Radieschen.

In sauerer Lösung gelblichrot, mit Soda blau, mit Bleiacetat rote Fällung.

Anthocyane von Mohn, von Pelargonium.

In sauerer Lösung gelbrot (Pelargonie) und blaurot (Mohn): mit Soda violett; durch Isormerisation entfärbt.

Anthocyane der Nelke, der Aster.

In sauerer Lösung rot, mit Soda in dicker Schicht rot, in dünner blaugrün (Nelke) oder rotviolett bis rotbraun (Aster).

Anthocyane der roten Rübe (sowie der Melde).

In sauerer Lösung violett, mit Soda rot, Bleisalz rot.

Neben den Anthocyanen enthalten die Blüten, und zwar auch blaue und rote Blüten, in Wasser oder verdünntem Alkohol lösliche gelbe Farbstoffe. Manche von ihnen sind schon bekannt, namentlich durch die schönen Arbeiten von A. G. Perkin z. B. Quercetin, Rhamnetin und Isothamnetin, Kämpferol, Gossypetin, Luteolin, Genistein, Butein und ihre Glucoside; diese Blütenfarbstoffe sind teils identisch, teils nahe verwandt mit den ausgezeichnet untersuchten natürlichen gelben Beizenfarbstoffen aus Hölzern, Wurzeln, Rinden und Knospen. Die gelben Pflanzenfarbstoffe, für die sich noch kein Klassenname eingebürgert hat, könnte man mit dem schon von L. G. Marquart[2]) gebrauchten Namen Anthoxanthin bezeichnen.

[1]) Mit getrockneten Blüten untersucht.

[2]) Die Farben der Blüten, Bonn, 1835.

Ganz verschieden von den durch Wasser oder Alkohol extrahierbaren, salzbildenden gelben Farbstoffen sind die häufig neben ihnen in Blüten und Früchten vorkommenden chemisch indifferenten Carotinoïde.

Isolierung und Analyse des Cyanins.

Man hat zumeist Bedenken getragen, Anthocyane aus getrockneten Blüten darzustellen und Molisch sowie Grafe haben sogar ihre mikroskopischen Krystallisationen nur mit frischen Blütenblättern erzielt. Man kann aber auch die Blüten, welche leicht mikroskopische Krystalle geben, trocknen (z. B. Rosen zwischen Filtrierpapier oder die Scharlachpelargonie im Exsikkator oder kürzere Zeit im Trockenschrank) und braucht sie dann nur unter etwas anderen Bedingungen wie bei dem Versuche von Molisch mit Essigsäure zu behandeln, um Krystallisationen im kleinen Masstab entstehen zu lassen. Auf die getrockneten Blüten lies ich im Reagierglas 75 % Essigsäure einwirken und dunstete einen Tropfen des Auszuges auf dem Objektträger unter dem Deckglas langsam ein.

Aus denselben Gründen, die für die Gewinnung von Chlorophyll das verarbeiten getrockneter Pflanzen vorziehen lassen, habe ich als Ausgangsmaterial trockene Blüten verwendet; man wird dadurch von der Jahreszeit und dem Standort der Pflanzen unabhängig, man kann grössere Mengen verarbeiten und begegnet weniger den störenden Enzymwirkungen. Mein Ausgangsmaterial sind die ohne Kelche gesammelten Blüten der Kornblume in der Form eines feinen Pulvers; bei kolorimetrischem Vergleich ihres Farbstoffgehalts stehen die getrockneten Blüten nicht viel hinter den frischen zurück, sie enthalten etwa 0,6 % Cyanin.

Der blaue Farbstoff lässt sich bei sehr raschem Arbeiten mit Wasser oder alkoholhaltigem Wasser extrahieren, ohne dass er in erheblichem Masse Umwandlung in die farblose Form erleidet; leichter gelingt dies bei Zusatz von viel Natriumnitrat oder Natriumchlorid (nicht durch Kaliumchlorid), wodurch die Veränderung des Farbstoffs hintangehalten wird. Aus der Lösung fälle ich das Cyaninsalz mit Alkohol und trenne es von einer bedeutenden Menge farbloser Begleitstoffe durch wiederholte fraktionierte Umfällung mit Alkohol aus Wasser. Das Präparat wird sehr schön, aber es

bleibt mit viel farbloser Substanz, Kohlehydraten U. S. W. vermischt, mindestens mit der doppelten Menge. Nur in kleinem Masstab erhielt ich es durch Dialyse prächtig krystallisierend. Immerhin war der Farbstoff auch in der grösseren Menge hinreichend rein, dass die Analyse das Vorliegen einer Kaliumverbindung ergab.

Bei der Ueberführung des Kaliumsalzes in Cyanin, am besten in die Verbindung mit Salzsäure, fallen Beimischungen aus, hauptsächlich Pentosane. Das Cyaninchlorid krystallisiert nach einigen Reinigungsoperationen aus salzsäurehaltigem Weingeist und entspricht der Formel: $C_{28}H_{33}O_{17}Cl + 3\,H_2O$. Die Verbindung ist ein Glucosid. Sie wird von Säuren in die eigentliche Farbstoffkomponente, die als Cyanidin bezeichnet werden soll, und zwei Moleküle Glucose gespalten, nach der Gleichung:

$$C_{28}H_{33}O_{17}Cl + 2\,H_2O = C_{16}H_{13}O_7Cl + 2\,C_6H_{12}O_6.$$

Der zuckerfreie Farbstoff ist als Chlorid in prächtigen Krystallen gewonnen worden, auch seine säurefreie Form ist violett, sein Alkalizalz blau.

Zur Konstitution der Anthocyane.

Obwohl hier nur über die Analyse eines einzigen Glucosides berichtet werden soll, ist es keine zu gewagte Verallgemeinerung, wenn ich aus der Uebereinstimmung im Verhalten vieler Anthocyane, die ich geprüft habe, den Schluss ziehe, dass sie sämtlich Glucoside sind und ausschliesslich als Glucoside in den Pflanzen auftreten, während in früheren Arbeiten angegeben worden ist, dass diese Farbstoffe teils an Zucker gebunden, teils ohne Zucker vorkommen.

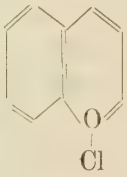
Ich beschreibe im experimentellen Teil eine Reaktion, die gleichmässig bei allen Anthocyanen verläuft und als eine Erscheinung der Glucosidspaltung zu erklären ist. Die saure, zweckmässig verdünnte schwefelsauere Lösung des Anthocyans gibt beim Durchschütteln mit Amylalkohol nichts an diesen ab. Kocht man die saure Farbstofflösung einige Minuten, so lässt sich der gespaltene Farbstoff gänzlich mit Amylalkohol ausziehen.

Mit der Abspaltung des Zuckers ändert sich also die Löslichkeit. Der zuckerfreie Farbstoff geht als schwefelsaueres Salz mit

rotvioletter Farbe in den Amylalkohol; beim Waschen mit viel Wasser schlägt die Farbe in blauviolett um.

Die zuckerfreien Spaltungsprodukte der Anthocyane, die eigentlichen Farbstoffkomponenten, sollen als Anthocyanidine bezeichnet werden.

Die Analyse des Cyanins und des Cyanidins hat ergeben, dass die beiden Verbindungen in der salzsauren Lösung als Salze mit einem Aequivalent Chlorwasserstoff existieren. Sie sind starke Sauerstoffbasen, die Salze verlieren auch beim Erwärmen im Hochvakuum keinen Chlorwasserstoff. Nun ist die Salzbildung mit Mineralsäure auch eine Eigenschaft vieler Flavone, die nach den grundliegenden Arbeiten von J. N. Collie und Th. Tickle[1]) sowie von A. v. Baeyer u. V. Villiger[2]) über den vierwertigen Sauerstoff A. G. Perkin und Ch. R. Wilson[3]), als Salzbildung des Pyronsauerstoffs erklärt haben. Aber es gibt einen grossen Unterschied zwischen den natürlichen gelben Beizenfarbstoffen und den Anthocyanen; die ersteren sind sehr schwache Sauerstoffbasen, so dass ihre Salzbildung mit Säuren eine nebensächliche Eigenschaft ist; durch Wasser werden die Salze quantitativ zerlegt. Mehr als an das Verhalten der Flavone erinnern die Anthocyansalze an die von J. J. Hummel und A. G. Perkin[4]) beschriebenen Verbindungen des Isohæmateïns und des Isobrasileïns mit Mineralsäure. Sie sind Verbindungen von der Art der Phenopyryliumsalze:



welche H. Decker und Th. von Fellenberg[5]) aufgefunden haben.

Die Abhängigkeit der Farbnatur von der Oxoniumsalzbildung scheint eine allgemeine Eigenschaft der Anthocyane zu sein. Diese stellen eine grosse Klasse von natürlich vorkommenden chinoiden Oxoniumverbindungen dar und zwar sind sie wahrscheinlich die

[1]) Journ. Chem. Soc. 75, 710 (1899).
[2]) Ber. d. D. chem. Ges. 34, 2679 (1901).
[3]) Journ. Chem. Soc. 83, 123 (1903).
[4]) Ber. d. d. chem Ges. 15, 2337 (1882).
[5]) Annalen 356, 281 (1907) und 364, 1 (1908).

ersten in der Natur beobachteten Oxoniumsalze. Diese Erklärung der roten Formen als Salze der Sauerstoffbasen mit Säuren ist durch die Versuche bewiesen.

Diese Betrachtung lässt sich mit irgend einer roten Blüte durch den Versuch veranschaulichen, z. B. der Scharlachpelargonie. Beim Verreiben mit Wasser und Calciumcarbonat schlägt ihre Farbe in Violett um. Dabei nimmt der Farbstoff kein Calcium auf, es wird nur die Pflanzensäure neutralisiert, an welche der (bekanntlich stickstoffreie) Farbstoff durch Oxoniumsalzbildung gebunden war.

Eine weitere Eigentümlichkeit, die nicht nur dem Kornblumenfarbstoff, sondern auch vielen anderen Anthocyanen zukommt, ist die beschriebene Isomerisation zu einer farblosen[1]) Modifikation. Dieselbe Reaktion zeigt der zuckerfreie Farbstoff. Sie tritt bei diesem ein, wenn man die wässerigalkoholische Lösung des Chlorides kurze Zeit im Wasserbad erhitzt; die Farbe verschwindet und sie kehrt quantitativ wieder beim Kochen mit Säure. Das farblose Derivat des Cyanidins ist ätherlöslich, während das Cyanidin in seinen verschiedenen Modifikationen in Aether und fast allen organischen Lösungsmitteln unlöslich ist. Diese wichtige Reaktion beruht gewiss auf einer konstitutionellen Eigentümlichkeit der Anthocyane. Der empirischen Formel nach ist das Cyanidin vom Brasileïn und Hæmateïn wahrscheinlich nur durch den Sauerstoffgehalt unterschieden:

$C_{16}H_{12}O_5$ Brasileïn
$C_{16}H_{12}O_6$ Hæmateïn
$C_{16}H_{12}O_7$ Cyanidin.

Einen einfachen Zusammenhang zwischen den gelben Pflanzenfarbstoffen und den Anthocyanen haben schon M. Nierenstein und M. Wheldale[2]) vermutet und durch die Darstellung von Oxydationsprodukten des Quercetins und des Chrysins zu bestätigen gesucht. Die erhaltenen sauerstoffreicheren Chinone, Querceton und Chryson, waren rote Substanzen, die sich in Alkalie mit blauer, in konzentrierter Schwefelsäure mit roter Farbe lösten. Doch sind diese Oxydationsprodukte nicht mit Recht als anthocyanartige Verbindungen angesprochen worden. Nämlich nicht Rotfärbung mit kon-

[1]) Farblos in ihrer verdünnten Lösung erscheinend; die Substanz kann farblos oder schwach farbig sein.

[2]) Ber. d. D. chem. Ges. 44, 3487 (1911); M. Nierenstein B. 45, 499 (1912).

zentrierter Schwefelsäure, wie Nierenstein und Wheedale annehmen, ist eine Anthocyanreaktion, sondern die Anthocyane sind Indikatoren, sie schlagen in der verdünntesten saueren Lösung von blau in rot um.

Meine Versuche der Isolierung und Analyse eines Anthocyans sind gegenüber der gewaltigen Arbeit, die in den anderen Gruppen von Pflanzenfarbstoffen geleistet worden ist, nur ein sehr bescheidener Anfang.

Experimenteller Teil.

Die Anthocyanidinreaktion.

Die Anthocyane geben eine schöne Reaktion, welche die glucosidischen Farbstoffe und ihre durch Abspaltung des Zuckers entstehenden Farbstoffkomponenten zu unterscheiden und neben einander zu bestimmen erlaubt. Sie beruht auf der entgegengesetzten Verteilung der Anthocyane und Anthocyanidine zwischen Wasser (verdünnter Säure) und Amylalkohol. Das Anthocyan bleibt bei geeigneten Versuchsbedingungen vollständig in der wässerigen Schicht, das Anthocyanidin geht quantitativ in den Amylalkohol über.

Diese Reaktion ist neu, nur die Anwendung des Amylalkohols zur Prüfung des Weinfarbstoffs ist oft, zuerst von J. Erdmann[1]), versucht und in der Literatur erörtert worden, aber man hat die Erdmannsche Probe stets missverstanden.

Erdmannsche Probe. Die Beobachtung liegt ihr zu Grunde, dass junger oder nur wenige Jahre alter Rotwein beim Neutralisieren mit Ammoniak eine flaschengrüne Färbung, dagegen beim Versetzen mit Salzsäure und darauffolgendem Neutralisieren mit Ammoniak eine grünlich dunkelblaue Farbe zeigt. Dieses Verhalten wird nach Erdmann unrichtig so erklärt, dass die Salzsäure eine Spaltung des Weinfarbstoffes in zwei Farbstoffe bewirke, von denen der eine mit Ammoniak blau und der andere mit demselben Reagens grün werde.

[1]) Ber. d. D. chem. Ges., 11, 1870 (1878).

Die angenommenen zwei Farbstoffe trennt Erdmann durch Ausschütteln mit Amylalkohol; die violettrote amylalkoholische Schicht gibt an verdünntes Ammoniak den Farbstoff mit anfangs hellgrüner, dann bräunlich-grüner Farbe ab, während die wässerig-salzsauere Flüssigkeit bei vorsichtigem Neutralisieren indigoblau wird.

In Wirklichkeit erfolgt keine Spaltung durch die Säure, sondern bei der Gärung des Traubensaftes ist ein Teil, und zwar der kleinere, des Anthocyans zum Anthocyanidin hydrolysiert worden. Aus diesem Grunde sind in der Tat zwei Farbstoffe im Wein vorhanden, sie werden nicht erst durch das Ansäuern gebildet. Beim Alkalischmachen mit Ammoniak führt dessen Einwirkung auf den Weinfarbstoff wie auf jeden Blütenfarbstoff sofort über die blaue Stufe hinweg zu einem grünlichen Zersetzungsprodukt. Wenn man aber zuvor ansäuert und dann erst alkalisch macht, ist das blaue Farbsalz beständiger. Eine solche Wirkung lässt sich öfters statt mit Salzsäure auch mit Chlornatrium oder Chloramonium allein erreichen. Diese Salze verbinden sich mit den Anthocyanen zu beständigeren, auch gegen Alkalien verhältnismässig beständigeren Additionsprodukten. Es mag sein, dass die Bildung derselben beim Ansäuren und Alkalischmachen vollständiger ist als beim Versetzen mit den Salzen.

Bei der Farbstofflösung z. B. aus Heidelbeere oder Weintraube beobachte ich beim Versetzen mit Natriumcarbonat den Umschlag in einen graubraunen Ton. Versetze ich aber die Lösung zuerst mit etwas Kochsalz, so schlägt sie mit Ammoniak oder Soda in schönes Blau um, ganz ähnlich wie beim Ansäuern und darauffolgenden Alkalischmachen.

Beim Ausschütteln des angesäuerten Weines mit Amylalkohol geht in diesen der geringe Anthocyanidinanteil des Pigmentes als Oxoniumsalz. Wenn ich aber den Rotwein oder die salzsauere Schicht der Erdmannschen Probe mit etwas Salzsäure, eine halbe Stunde lang im Wasserbad erhitze, dann erst wird der Farbstoff und zwar der gesamte hydrolytisch gespalten und lässt sich mit Amylalkohol quantitativ extrahieren. Bei stundenlangem Stehen mit der Salzsäure in der Kälte erfolgt diese Spaltung nicht.

Traubensaft gibt nach Ansäuern mit Salzsäure nur eine Spur Farbstoff an Amylalkohol ab. Wäscht man die amylalkoholische Schicht ein Mal oder ein paar Mal mit Wasser, so ist sie entfärbt,

sofort mit etwas Natriumacetat. Die in den Amylalkohol übergegangene kleine Farbstoffmenge ist nicht hydrolysiert. Der Teilungskoeffizient des Ozoniumsalzes für Amylalkohol-Salzsäure ist nämlich nicht unendlich, sondern nur sehr gross, für Amylalkohol Schwefelsäure ist er fast unendlich. Für unsere Anthocyanidinreaktion wendet man besser Schwefelsäure an.

Erdmann hat noch kurz angegeben, dass von anderen Pflanzenfarbstoffen sich manche bei der Amylalkoholprobe gleich dem Weinfarbstoff verhalten, und Weigert[1]) bemerkt sogar, dass die mit Bleiacetat grüne oder blaue Niederschläge liefernden Pflanzenfarbstoffe allgemein dies Verhalten in mehr oder minder ausgesprochener Weise zeigen. Doch ist dies irrtümlich. Abgesehen von dem kleinen Betrag von Glucosidsalz, das sofort aus dem Amylalkohol wieder weggewachsen werden kann, bleibt der Farbstoff der Blüten, Beeren und Blätter vollständig in der wässrig-saueren Schicht. H. W. Vogels[2]) Beobachtung, dass der Malvenfarbstoff aus angesäuerten Wein leichter als der Weinfarbstoff extrahiert werde, kann nur für das vor der Gärung zugesetzte und bei der Gärung gespaltene Anthocyan gelten.

Die neue Reaktion. Ein paar Krystalle (z. B. 0,05 mg.) von Cyaninchlorid werden mit einigen Kubikcentimetern normaler bis doppeltnormaler Schwefelsäure aufgenommen, worin es sich mit etwas gelbstichig roter Farbe leicht löst, weit leichter als in Salzsäure. Die sauere Lösung gibt an Amylalkohol nicht das Mindeste ab. Sie wird im Tropfrichter abgelassen, im siedendem Wasserbad $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde erhitzt und aufs neue mit Amylalkohol durchgeschüttelt. Nun geht das Cyanidinsalz vollständig in den Amylalkohol mit prächtig rotvioletter Farbe, die beim Waschen mit Wasser oder rascher mit Natriumacetat in schöner blaueres Violett umschlägt.

Um die Reaktion auf Pflanzenfarbstoffe, anthocyanhaltige Blätter, Blüten und Früchte zu übertragen, extrahiere ich, damit kein Farbstoff durch Zersetzung verloren gehe, mit 5 bis 7 % Schwefelsäure. Dass beim Extrahieren mit Wasser oder verdünntem Alkohol ein Teil des Anthocyans oder die ganze Menge durch

---

[1]) Loc. cit.

[2]) Praktische Spektralanalyse irdischer Stoffe, Berlin, 1889, Seite 438.

Isomerisation farblos wird (z. B. bei der Rose), würde nichts schaden, aber in nicht seltenen Fällen erleidet der Farbstoff gänzliche Zerstörung, wahrscheinlich infolge von Enzymwirkungen. Durch den Säurezusatz wird dies vermieden.

Ich verreibe ½ bis 2 g. des frischen Pflanzenmaterials mit dem fünf- bis zehnfachen Seesand mit einigem ccm. verdünnter Schwefelsäure, oft unter Zusatz von etwas Alkohol, und setze zur Erleichterung des Filtrierens etwas Talk hinzu. Der Auszug wird an der Pumpe auf einer kleinen Nutsche abgesaugt. Beim Ausschütteln der Anthocyanlösung mit Amylalkohol entstehen oft lästige Emulsionen; sie lassen sich beseitigen, indem man die Mischung durch ein feuchtes Filter giesst und das darauf Zurückbleibende durch ein zweites trockenes Filter laufen lässt. Die amylalkoholische Schicht muss mit Wasser oder Natriumacetatlösung gewaschen werden, weil die Begleitstoffe in den Säften oder der im Extrakt enthaltene Aethylalkohol zunächst etwas Anthocyan in den Amylalkohol mitzunehmen pflegen. Während sich das Anthocyan quantitativ aus dem Amylalkohol wegwaschen lässt, kann vom Anthocyanidin nicht das Geringste aus dem Amylalkohol ausgeschüttelt werden.

Ergebnis. Ich fand bei allen untersuchten Beispielen von Pflanzenstoffen das gesamte Anthocyan in seiner Verteilung zwischen Amylalkohol und wässeriger Säure dem beschriebenen Cyanin entsprechend und vermochte fast immer die vollständige Hydrolyse zum amylalkohollöslichen Anthocyanidin auszuführen.

	Pflanzenfarbstoff	Farbe des angesäuerten Extraktes.	Farbe desselben nach Zusatz von Soda.	Farbe d. amylalkol. Schicht nach der Hydrolyse.
Blüte	Rittersporn	violettstichigrot	blau	rotviolett
„	Rose	rot	blau[1])	violettrot
„	Stockrose	dunkelrot	blau	rotviolett
„	Pæonie	hellrot	blau	tiefviolettrot
„	Salbei (S. falgens)	gelbrot	blauviolett	rot
„	Mohn	braunrot	tiefviolett	tiefrot violett tingierend
„	Pelargonie	gelbrot	violett	rot

[1]) Grün, wenn die Blüte Anthoxantin enthält, ebenso bei Pæonie u. a.

	Pflanzenfarbstoff.	Farbe des angesäuerten Extraktes.	Farbe desselben nach Zusatz v. Soda.	Farbe des amylalkohol. Schicht nach d. Hydrolyse.
Frucht	Kirsche	hellrot	violett	rotviolett
„	Himbeere	hellrot	blau	violettstichig rot
„	Erdbeere	hellrot	blau	violettstichig rot
„	Heidelbeere	rot	blau	violettrot
„	Weintraube	violettstichigrot	blau	rotviolett
„	Apfel (Schale)	rot	blauviolett	violettrot
Blätter	Blutbuche	rot	blauviolett	dunkelrotviolett
„	Haselnuss	rot	—	violettstichig dunkelrot
„	Melde	violett	rot	zerstört gelbbraun
Wurzel	Radieschen	gelbrot	blau	rot, etwas violettstichig

Isolierung des Anthocyans.

a. Unter Anwendung von Natriumnitrat.

Die wässerigen oder verdünnt-alkoholischen Auszüge der Blüten werden rasch farbschwächer. Ich extrahierte z. B. 0,5 g. trockene Blüten mit Wasser (Filtrat 50 ccm.) und beobachtete nach einer Stunde 85, nach zwei Stunden 73, nach vier Stunden 59, nach fünf Stunden ungefähr 38 Prozent des anfänglichen Farbgehalts. Bei Zusatz einer Spur Oxalsäure verlief die Aufhellung noch rascher.

Zum Schutze des Farbsalzes eignet sich ein Zusatz von Natriumchlorid oder Natriumnitrat. Letzteres hat den Vorzug, die Ausfällung von Cyaninblei aus der Mutterlauge des Farbstoffs nicht zu stören und es lässt sich vom Farbsalz mit Hilfe von 75 %igem Alkohol trennen, der noch nicht verdünnt genug ist, um das blaue Salz zu lösen.

Es ist fast unmöglich, den wässerigen Extrackt von dem aufquellenden Blütenpulver abzufiltrieren, aber es gelingt rasch und leicht, wenn man das Pflanzenmaterial mit einer grossen Menge Sand verdünnt. Wende ich das dreifache Gewicht Sand an, so filtriert der Extrakt einer Charge in einer bis drei Stunden, beim Sechsfachen an Sand genügen 10 bis höchstens 20 Minuten. Ich extrahiere mit Wasser oder mit 20 %tigem Alkohol und zwar auf dem Nutschenfilter ähnlich wie bei der Chlorophylgewinnung.

Ich vermische in einer Reibschale 1 kg. Kornblumenmehl gründlich mit 6 kg. reinem Sand und lasse in die Schale schnell 4,800 ccm. Wasser fliessen. Den gründlich verriebenen dicken Brei fülle und presse ich schnell auf eine grosse, sehr flache Steinzeuggnutsche,[1]) die mit Filtrierpapier, darüber mit Köliertuch und einer centimeterhohen Schicht von feuchtem Sand bedeckt ist. Der Extrakt wird sofort mit dem Maschinenvacuum abgesaugt und der Filtrierrückstand mit zweimal 600 ccm. Wasser nachgewaschen. Im Filtrierstutzen der Nutsche befinden sich 500 g. feingepulverter Natronsalpeter, auf dem gerade das Filtrat fliesst; die Auflösung befördert man, indem während des Saugens durch den Abflusshahn von Zeit zu Zeit Luft eingelassen wird.

Der Extrakt ist tief blau; sein Volumen wird gemessen, es pflegt zwischen $3^1/_4$ und $3^1/_2$ Liter zu betragen. Dann vermische ich in einem grossen gläsernen Dekantiertopf die Flüssigkeit unter starkem Rühren mit 96prozentigem Alkohol und zwar mit 2,5 bis 2,6 Volumen für je 1 Volumen Extrakt und fälle dadurch das Pigment in blauen Flocken aus. Nach 1—2 Stunden ist die Flüssigkeit genügend geklärt, um bis auf etwa 4 Liter dekantiert zu werden, die ich im „Bol metallique“ der Juan-Zentrifuge (von Leune, Paris)[2]) aufarbeite. Statt dessen kann man auch die Suspension mit Talk vermischen und absaugen. Der im Bol als ringförmige Kruste gesammelte Niederschlag wird mit Sprit und mit absolutem Alkohol gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die Ausbeute beträgt 27 g. eines Präparates, das etwa 3,2 g. reinen Farbstoff enthält.

Neben einander lassen sich gut zwei solche Chargen extrahieren und gemeinsam an der Zentrifuge aufarbeiten. Das Filtrat ist hell rotbraun und wird beim Ansäuren schön rot; es enthält also viel von der farblosen Modifikation des Cyanins, die hier hauptsächlich aus der violetten entstanden ist.

Die ersten Reinigungsoperationen bestehen im Umfällen aus wässeriger Lösung mit Alkohol. Dabei werden schwererlösliche Stoffe zurückgelassen und der schwerst lösliche Teil des in Lösung Gehenden als unreine erste Fraktion abgetrennt.

---

[1]) Beschrieben bei Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin, J. Springer (1913).

[2]) Siehe Untersuchungen über Chlorophyll.

Das Rohprodukt aus 5 kg. Blüten wird feingepulvert und durch Vermischen mit dem Sechsfachen von Seesand und Anrühren mit 4 Liter Wasser in einer Reibschale in Lösung gebracht oder durch langsames Eintragen des Pulvers (ohne Sand) in das stark gerührte Wasser. Dann giesse ich die Flüssigkeit auf 250 g. fein gegepulvertes Natriumnitrat und rühre lebhaft weitere fünf Minuten. ehe ich auf der Nutsche (wieder auf Papier, Tuch und Sand) absauge; man wäscht mit einem Liter Wasser nach. Das Filtrat, wieder gemessen (ungefähr 5 Liter), wird unter kräftigem Rühren mit nur $1^1/_4$ Volumen 96prozentigem Alkohol gefällt. Nach fünf Minuten weiteren Rührens wird in der Zentrifuge die tiefblaue Lösung von dem in der Hauptmenge farblosen Niederschlag befreit.

Ich fälle sie weiter mit Sprit und zwar mit beinahe dem gleichen Volumen, nämlich etwa 10 Litern. Nun wird wieder dekantiert und der Niederschlag im Bol der Zentrifuge isoliert, mit Sprit und absolutem Alkohol gewaschen; seine Menge ist nur noch 22—25 g. aus 5 kg. Blüten, der Reinheitsgrad[1]) erst auf 12,2 gestiegen.

Das Filtrat, schwach rotviolett, enthält viel von der farblosen Modifikation, aber mit dem 25fachen farbloser Nebenprodukte vermischt. Es lohnt sich, die Substanz durch Eindampfen zu gewinnen. Das hinterbleibende violette Produkt lässt sich mit salzsäurehaltigem Alkohol auf Cyaninchlorid verarbeiten. Den aus solchen Mutterlaugen der Umfällung isolierten Farbstoff, der hauptsächlich vom Gehalt der Blüten an violetter Anthocyanmodifikation stammte, habe ich mit Säure gespalten und als Cyanidinchlorid identifiziert.

Eine zweite Umfällung nehme ich ohne Zusatz von Salpeter vor und zwar mit der Ausbeute aus 20 kg. Kornblumen. Das gepulverte Farbsalz wird mit 500 g. feinem Seesand vermischt und mit 1500 ccm. Wasser angerührt und ausgezogen; zum Nachwaschen dienen 750 ccm. Eine geringe erste Fraktion scheide ich mit dem doppelten Volumen Sprit ab und fälle die in der Zentrifuge geklärte, schön dunkelblaue Farbstofflösung mit dem doppelten des nunmehrigen Volumens an Alkohol. Auf gleiche Weise wie beim früheren Male werden nun 25 g. Cyaninsalz isoliert, die 27 Prozent reinen Farbstoffs enthalten. Auch diesmal ist das Filtrat durch seinen Gehalt an isomerer Modifikation wertvoll.

[1]) Ich verstehe darunter den Prozentgehalt des Präparates an reinem Farbstoff.

b. Ohne Zusatz von Salzen.

Nach dem ausgearbeiteten Verfahren kann man bei einiger Uebung das Cyaninzalz rasch genug auch ohne den Schutz durch Natriumchlorid oder Nitrat isolieren. Man muss auf diesen verzichten, wenn man den natürlichen Mineralbestandteil des Cyaninsalzes ermitteln, nämlich dieses in seiner ursprünglichen Zusammensetzung isolieren will. Denn unter den beschriebenen Bedingungen wird natürlich Natrium das ursprünglich vorhandene Kalium verdrängen.

1 kg. Blütenmehl vermische ich wieder gründlich mit 6 kg. gewaschenem und getrocknetem Sand und verarbeite es mit 4 Liter verdünntem Alkohol (80 Volumen Wasser + 20 Volumen 96prozentigem Sprit) zu einem gleichmässigen Brei; dies muss möglichst rasch geschehen, weil bei längerer Dauer die Pflanzensubstanz immer mehr Flüssigkeit aufnimmt. Die Masse wird als Schicht von 7—8 cm. Höhe in die grosse Steinzeugnutsche gefüllt, gleichmässig gepresst und scharf abgesaugt. Zum Verdrängen des Extraktes wäscht man mit einem Liter noch verdünnterem, nämlich $9^1/_2$prozentigem Alkohols nach. Im ganzen erfordert die Verarbeitung kaum mehr als eine Viertelstunde, der Extrakt beträgt 2600—2800 ccm. Er wird sofort unter starkem Rühren gefällt, wofür man auf je drei Volumenteile des Filtrates fünf Teile 96prozentigen Alkohol nimmt. Die Isolierung des Niederschlags geschah sogleich mit dem Bol der Jouan-Zentrifuge; es wird möglichst rasch im Vakuumexsikkator getrocknet.

Es ist zweckmässig, wieder zwei Nutschen neben einander zu beschicken. Während die erste Ausbeute in die Zentrifuge einläuft, lässt man die Fällung der zweiten Charge absitzen, so dass davon mittlerweile die Hälfte oder zwei Drittel dekantiert werden können.

Die Ausbeute an Rohprodukt betrug zwischen 20 und 24,5 g. (aus 1 kg.).

Zur Reinigung von dem grössten Teile der schleimartigen Extraktstoffe fällte ich das Cyaninsalz um, ähnlich wie beschrieben, aber aus verdünnt alkoholischer Auflösung. Die Ausbeute aus etwa 5 kg., nämlich 100 g. trug ich feingepulvert in $2^1/_2$ Liter 20prozentigem Alkohol ein, der mit dem Rührer in starker Bewegung gehalten war. Ich setzte das Rühren noch zehn Minuten fort und saugte die gebildete Lösung auf einer mit feuchtem Sand

bedeckten Nutsche ab: der beträchtliche Rückstand wurde mit einem Liter desselben Lösungsmittels nachgewaschen. Aus dem Filtrat liess sich als erste Fällung die Hauptmenge der Begleitstoffe abscheiden durch Zusatz von 73 Raumteilen Sprit für 100 Teile der Lösung. Nach dem Klären in der Zentrifuge war die Flüssigkeit prächtig dunkelblau; sie wurde vollends mit wenig mehr als ihrem eigenen Volumen Sprit gefällt; isoliert und getrocknet wie zuvor war die Ausbeute (aus 1 kg.) nämlich die zweite Fraktion auf 5 bis 8 g. zurückgegangen.

Eine zweite Umfällung nehme ich mit dem Präparate aus 10 kg. vor; zum Auflösen und Nachwaschen dienten 27,5 bis 29 ccm. 20prozentigem Alkohol für je 1 g. einmal ungefällter Substanz. Die geringwertige erste Fraktion scheide ich mit $1^1/_3$ Volumen, die Hauptfraktion mit $1^1/_5$ Volumen (bezogen auf das Filtrat der ersten Fällung) Alkohol ab. Aus verschiedenen Ernten von Kornblumen gewann ich 1,2, 1,4, 1,9 und 2,05 etwa 20prozentiger Präparate.

Kolorimetrische Bestimmung des Cyanins.

Frische und getrocknete Blüten sowie Darstellungen des Farbstoffs werden kolorimetrisch analysiert durch den Vergleich mit dem reinen Cyaninchlorid. Bei der Untersuchung der Blüten ist zu unterscheiden zwischen ihrem Gehalt an dem blauen Farbsalz und dem Gesamtgehalt an Cyanin in seinen verschiedenen Modifikationen, der blauen, violetten und farblosen. Beim Trocknen verschiebt sich das Verhältnis zu Ungunsten des blauen Salzes

Frische Blüten. Ich verreibe 2 g. von den Kelchen befreite Blüten mit 15—20 g. Seesand in der Schale und rühren sie unter Zusatz von 5—10 g. Talk, um das Filtrieren von der schleimigen Pflanzensubstanz zu erleichtern, mit einigen ccm. Wasser zu einem Brei an. Er wird auf eine Nutsche gefüllt, die mit Filtrierpapier und darüber mit einer dünnen Schicht von feuchtem Sand bedeckt ist, und unter Saugen mit Wasser (etwa 60 ccm.) vollends ausgezogen. Das Filtrat fliesst in einen mit 10 g. feingepulvertem Natriumchlorid (das Farbsalz wird nicht allein dadurch haltbarer, die Lösung wird auch schöner blau und besser mit dem reinen Pigment vergleichbar) beschickten Saugkolben, das Volumen wird schliesslich im Messkolben auf 100 ccm. ergänzt.

Die blaue Lösung analysiere ich im Kolorimeter, wobei sie nie mit Metallsalze in Berührung kommen darf, mittels eines Präparates des Cyaninkaliums von bestimmtem Farbwert oder besser mit der Vergleichslösung, die aus reinem Cyaninchlorid bereitet ist, z. B. aus 5,0 mg. in 250 ccm. Lösung. Zwei Bestimmungen sind auszuführen.

a) Die Vergleichslösung von Cyaninchlorid wird mit Salzsäure, dann mit Soda und mit Kochsalz versetzt für die Bestimmung des blauen Farbsalzes der Blüte.

b) Der Auszug der Blüte wird angesäuert und der Gesamtgehalt an den verschiedenen Farbstoffmodifikationen ermittelt, soweit sie mit Wasser extrahierbar sind. Das Cyaninkalium befindet sich quantitativ, der violette Farbstoff unvollständig im Extrakt.

Trockene Blüten. 1 kg. frischer Blüten gab 250 g. trockene, das Blütenmehl enthielt gewöhnlich 8 Prozent Feuchtigkeit. Von feingepulverten Blüten kann man 1 g. mit 10 g. Seesand und 5 g. Talk vermischt, wie im vorigen Beispiel mit Wasser extrahieren.

Die Bestimmung mit der in Blau übergeführten Vergleichslösung ergibt das in der Form von Alkalisalz vorhandene Anthocyan. Um die Gesamtmenge des Anthocyans (einschliesslich des farblos gewordenen und des mit so leicht extrahierten violetten) zu finden, ist es besser, die gepulverten Blüten mit ätherischer Salzsäure auszuschütteln und auf der Nutsche abzusaugen; dann extrahiert man sogleich auf der Nutsche mit Sprit und filtriert die Lösung einige Male von gallertiger Ausscheidung. Die Vergleichslösung dafür wird aus Cyaninchlorid durch Lösen mit etwas verdünnter Schwefelsäure und mit Alkohol hergestellt.

Auf dieselbe Weise bestimme ich das Rohprodukt von blauem Cyaninsalz und die verschiedenen bei der Reinigung erhaltenen Fraktionen durch Auflösen von 5,0 mg. Substanz in 100 ccm. 7prozentigen Schwefelsäure und durch Vergleich mit der Cyaninchloridlösung.

Ergebnis. Meine trockenen Kornblumen enthalten 50—60 Prozent des blauen Farbsalzes, das sie im frischen Zustand erhalten hatten, aber an gesamtem Anthocyan 80 Prozent der ursprünglichen Menge. Beim Trocknen der Blüten ist mehr Farbstoff isomerisiert als zerstört worden. Es ist daher zu empfehlen, die getrockneten

Blüten direkt auf Cyaninchlorid zu verarbeiten anstatt auf das Alkalisalz.

Die trockenen Kornblumen (Ernte 1912, von E. Merck in Darmstadt bezogen) enthielten nur ein Drittel vom Cyanin in der Form des blauen Salzes; 1 kg. enthielt blauen Farbstoff äquivalent 2,4 g. Cyaninchlorid und von den verschiedenen Modifikationen des Anthocyans im Ganzen äquivalent 6,5 bis 7 g. Cyaninchlorid.

Reinigung des Cyaninalkalisalzes.

Das unter Anwendung von Natriumnitrat gewonnene blaue Farbsalz enthielt auch nach drei Umfällungen noch von dem anorganischen Salze. Um es zu entfernen, wurden 15 g. des feingepulverten Präparates in Portionen mit 300 ccm. 75prozentigem Alkohol in der Reibschale angerieben und in den Gläsern der Zentrifuge von der Flüssigkeit getrennt. Nach Wiederholung des Verfahrens enthielt das Farbsalz (11,7 g. 28prozentig) nur noch Spuren von Salpeter. Ich konnte den Reinheitsgrad noch etwas steigern durch fraktioniertes Lösen mit 65prozentigem Alkohol, wovon 360 ccm. angewandt wurden. Ungelöst blieben 4,5 g. (Reinheitsgrad 32,5), aus dem Filtrat wurden mit 1150 ccm. absolutem Alkohol und mit 1 Liter Aether 5,2 g. Farbsalz (26prozentig) gefällt als prächtig tiefblaues Pulver, das nach dem Trocknen kupfrigen Glanz zeigte. Durch weitere Behandlung mit Lösungsmitteln vermochte ich die Präparate noch etwas zu verbessern, namentlich einen kleinen Phosphorgehalt zu beseitigen, aber die kolorimetrische Bestimmung ergab fast keine weitere Erhöhung des Farbwertes. Ich löste 4 g. der ungelösten Fraktion meiner letzten Reinigung in 300 ccm. 60prozentigem Alkohol auf unter Abtrennung von 0,45 g. eines aschereichen, sehr schwach gefärbten Rückstands und fällte die Lösung mit 600 ccm. absolutem Alkohol und 100 ccm. Aether (Niederschlag 0,7 g.), sodann mit weiteren zwei Liter Aether (Niederschlag 2,1 g.). Die Isolierung geschah in allen Fällen, um die schädliche Einwirkung der Lösungsmittel abzukürzen, mit Hilfe der Zentrifuge von hoher Tourenzahl.

Die letzte Fällung war die reinste; ihre Asche enthielt viel Kalium und Natrium und eine kleine Menge Calcium.

Das Natrium rührt nur von der Anwendung des Salpeters her. Von dem ohne Zusatz anorganischen Salzes gewonnenen Präparat des Verfahrens (b) reinigte ich die Ausbeute von 10 kg. nach dem

beschriebenen Umfällen, es waren 18,3 g. noch weiter durch Auflösen in 750 ccm. 20prozentigem Alkohol und fraktioniertes Ausfällen. Zunächst wurden mit $1^1/_3$ Volumen Alkohol 5 g., dann aus der centrifugierten Flüssigkeit mit nochmals ihrem gleichen Volumen Alkohol 10,3 g. Cyaninsalz niedergeschlagen. Das Präparat war Kaliumsalz, es enthielt kein Natrium.

Dem Farbstoff blieb hauptsächlich ein kolloidales Kohlehydrat beigemengt und zwar ein Pentosan. Es lässt sich durch Dialyse davon trennen, aber man muss für diesen Zweck das Cyaninsalz in starker (20prozentiger) Chlornatriumlösung aufnehmen und es auch in solche Lösung hinein dialysieren lassen. In dieser Flüssigkeit ist das Anthocyan monatelang beständig; während in 10prozentiger Kochsalzlösung schon in 24 Stunden die Aufhellung merklich ist.

Die Dialyse erfolgt sehr langsam. Beim Eindunsten des Dialysates traten neben dem Kochsalz durchwegs schöne dunkelblaue sechseckige Täfelchen auf. Es ist wahrscheinlich, dass sie aus einem Additionsprodukt des Cyaninalkalisalzes mit Natriumchlorid bestehen. Sie lassen sich vom Ueberschuss des anorganischen Salzes mit Hilfe von Aethylenglykol trennen, worin sie sehr leicht löslich sind. Durch Aethylalkohol oder Alkohol-Aether wird das Pigment in dunkelblauen Flocken gefällt. Eine Darstellung des Farbstoffs, die noch viel stickstoffhaltige Beimischungen aufwies, enthielt nach der Dialyse höchstens eine Spur von Stickstoff.

Das Alkalisalz ist umso leichter löslich in Wasser, je reiner es ist: schon die durch fraktionierte Fällungen gereinigten Präparate lösen sich spielend. Eine konzentrierte Lösung zeigt erst in einem oder in zwei Tagen deutliche Abnahme der Farbe, eine sehr verdünnte Lösung entfärbt sich gänzlich in ein paar Stunden und sofort beim Erwärmen. Dagegen zeigt sich die Farbe sehr licht- und luftbeständig, wenn man die konzentrierte Lösung auf Filtrierpapier eintrocknen lässt und dem Sonnenlicht aussetzt.

Die Isomerisation wird am besten von Natriumchlorid und gut von Natriumnitrat, aber nicht oder wenig von Kaliumnitrat oder Kaliumchlorid hintangehalten. Es handelt sich also um eine spezifische Wirkung des anorganischen Salzes, nicht um eine Folge verminderter Dissoziation der Cyaninalkaliverbindung. Wahrscheinlich wird in der Blüte des Farbsalzes, in analoger Weise durch Bestandteile des Zellsaftes geschützt.

Die reine blaue Farbstofflösung zeigt auf Zusatz von wenig Soda zunächst keine Farbänderung, eine gestandene Lösung wird hingegen grünblau oder blaugrün, weil die Lösung nun auch die farblose Modifikation enthält. Dies ist das Verhalten eines wässrigen Blütenauszuges, worin sich überdies noch gelbe Farbstoffe befinden, deren Alkalisalze intensiv gelb sind.

Darstellung des Cyaninchlorides.

Bei der Umwandlung in rein chlorwasserstoffsaueres Salz trenne ich das Glucosid von den beigemischten Kohlehydraten, namentlich Pentosanen, die aus der salzsaueren Lösung durch Alkohol gefällt werden. Der Farbstoff wird aus dem Filtrat durch Zusatz von Aether abgeschieden. Durch Aufnehmen mit absolutem Alkohol befreit man ihn vollends von ziemlich viel kolloidalen Substanz und von Mineralbestandteilen. Das Chlorid ist im gefällten, amorphen Zustand bereits rein; es wird aus wässrig-alkoholischer Salzsäure krystallisiert erhalten.

Das zweimal umgefällte Cyaninalkalizalz löse ich in 20prozentiger Salzsäure, 10 g. in 75 ccm., indem ich das feine Pulver in kleinen Anteilen unter starkem Rühren in die Säure eintrage und nacher noch eine Viertelstunde mit dem Rühren fortfahre. Die Auflösung vervollständigt sich noch, während ich, immer unter Rühren, ein Liter absolutem Alkohol einfliessen lasse. Dadurch wird das Kohlehydrat niedergeschlagen. Ich schliesse nun die Flasche und schüttele sie noch eine halbe Stunde an der Maschine, um den roten Farbstoff möglichst quantitativ in Lösung zu bringen. Dann filtriere ich von dem hellen Niederschlag ab und scheide den roten Farbstoff aus dem Filtrat mit dem fünffachen Volumen Aether ab, den ich wieder unter gutem Rühren zufliessen lasse. Das Chlorid wird auf dem Filter mit Aether gewaschen und getrocknet; die Ausbeute beträgt $3^1/_2$—4 g.

Das Kohlehydrat wurde durch Umfällen aus Wasser, womit es aufquellend leicht eine kolloidale Lösung gibt, mit Alkohol und etwas Salzsäure gereinigt.

0,1754 g. gaben 0,2907 CO_2 und 0,0961 H_2O

Berechnet für $(C_5H_8O_4)$ x		Gefunden
C	45,45	45,2
H	6,06	6,1

Es ist nach seinem Verhalten Xylan mit einer Beimischung von anderen Polyosen. Ich fand für eine Lösung von 0,265 g. in 100 ccm. 4,5prozentiger Schwefelsäure $[a]_D = -70°$ (für Xylan gehen die Angaben von -69 bis $-84°$), nach einstündigem Kochen unter Rückfluss war $[a]_D = +26{,}8°$, während für Xylose $[a]_D = +18{,}4$ bis 29,7° angegeben wird. Die Bestimmung in der Form des Furolphloroglucides ergab 66,5 Prozent Pentosan in dem Präparat.[1])

Das Rohprodukt von salzsauerem Glucosid trage ich feingepulvert in Portionen in eine Schüttelflasche ein, die schon eine 2—3 ccm. hohe Schicht absolutem Alkohols enthält. Nun schüttele ich kräftig eine Stunde lang und filtriere die schöne, dunkelrote Lösung von einem sehr voluminösen, noch farbstoffhaltigen Gel, das in die Schüttelflasche zurückgegeben und ein zweites Mal in derselben Weise mit absolutem Alkohol extrahiert wird. Die vereinigten alkoholischen Lösungen versetze ich mit 10 bis 15 Tropfen konzentrierter Salzsäure und stelle sie in flachen Schalen in einem grossen Steinzeugexsikkator neben Schalen mit Aether auf. Der Exsikkator wird etwas evakuiert. Nach 12 bis 20 Stunden ist die erste Ausscheidung des Cyaninchlorids abzufiltrieren; sie ist nicht ganz rein, sie enthält nämlich noch ein wenig kolloidale Substanz, die in absolutem Alkohol unlöslich, aber in 96prozentigem schon sehr leicht löslich ist. Das Filtrat (ohne Waschaether) stelle ich weitere zwei oder drei Tage in den mit Aether beschickten Exsikkator und erhalte nun eine zweite reine Fraktion (z. B. 1 g. aus 4 g. Rohprodukt), die auf dem Filter mit Aether gewaschen wird. Aus dem Filtrat schlage ich durch Zusatz von Aether den Rest des Farbstoffs in weniger reinem Zustand nieder.

Die Mittelfraktion ist unter dem Mikroskop einheitlich und besteht aus regelmässigen dunkelroten Kügelchen, die wahrscheinlich von einer äusserst feinen farblosen Kolloidhaut umgeben sind. Für die Krystallisation ist ein solches Präparat rein genug, für die Analyse habe ich seine fraktionierte Ausscheidung wiederholt.

Das amorphe Produkt, das nur so lange ihm Salzsäure anhaftet, hygroskopisch, sonst luftbeständig ist, eignet sich für Reak-

[1]) Meinem Freunde Endre Ungar, der diese Analyse übernahm, möchte ich noch hier meinen Dank aussprechen.

tionen besonders gut, weil es leichter löslich ist als das krystallisierte Chlorid. Es ist in Aethyl-, auch in Methyl-Alkohol und in Wasser leicht löslich und zwar in allen mit zuerst schön roter Farbe, die sich in einigen Minuten aufhellt. In absolutem Alkohol erfolgt die Entfärbung viel langsamer als bei Gegenwart von Wasser.

Beschreibung und Analyse von Cyaninchlorid.

Das feine Pulver des amorphen Salzes wird in der beschriebenen Weise unter Schütteln wieder in absolutem Alkohol aufgelöst, filtriert und mit einem Drittel seines Volumens an etwa 7prozentiger wässriger Salzsäure vermischt. Die Flüssigkeit bleibt, mit Filtrierpapier lose bedeckt, in flachen Schalen stehen. Sehr konzentrierte Lösungen beginnen in einigen Stunden, mässig konzentrierte nach einem Tage das Chlorid in regelmässigen, gut ausgebildeten Krystallen von dunkelblauer Oberflächenfarbe und prächtigem Goldglanze abzuscheiden (0,34 g. aus 0,41 g. Pulver). Sie haben stets die Form rhombenförmiger Blättchen, sie sind dünn und erscheinen daher in der Durchsicht unter dem Mikroskop grauviolett bis braungelb. Die Farbe ihres feinen Pulvers ist braunrot, der Strich beinahe schwarz.

Das Chlorid krystallisiert mit drei Molen Wasser, die im Vakuumexsikkator abgegeben werden.

I. 0,23765 g. verloren 0,01685 H_2O
II. 0,27820 g. verloren 0,01980 H_2O

Berechnet für $C_{28}H_{33}O_{17}Cl\ 3\ H_2O$.

		Gefunden:	
		I	II
$3\ H_2O$	= 7,39 %	7,09 %	7,12 %.

Die Substanz wird durch die Trocknung sehr hygroskopisch, es ist notwendig, diese unter sehr niedrigem Druck im Acetonbad zu vervollsständigen und die Substanz für die Analyse mit Differenzwägung des Trocknungskölbchens in das Schiffchen abzufüllen. Chlorwasserstoff wird unter den Bedingungen der Trocknung nicht abgegeben, auch nicht beim Waschen mit Alkohol oder Aether, aber ein Teil des Chlorwasserstoffs wird beim Waschen mit Wasser verloren. Das getrocknete Salz sintert im Röhrchen bei 196,5 bis 197° und schmilzt bei 203—204° (corr.).

Amorph. Präp.	I.	0,1635 g.	gaben 0,29395 CO_2 und 0,0750 H_2O
	II.	0,1047 g.	„ 0,02677 AgCl (nach Carius)
	III.	0,0893 g.	„ 0,02297 AgCl (nach Carius)
Krystall. Präp.	IV.	0,1118 g.	„ 0,20205 CO_2 und 0,0509 H_2O
	V.	0,1029 g.	„ 0,0222 AgCl (nach Carius)
	VI.	0,1139 g.	„ 0,0234 AgCl (nach Carius)

		Gefunden	Amorph.			Kryst.		
Berech. für $C_{28}H_{33}O_{17}Cl$			I	II	III	IV	V	VI
C	49,67		49,03	—	—	49,29	—	—
H	4,88		5,10	—	—	4,86	—	—
Cl	5,25		—	6,33	6,36	—	5,33	5,08

Das kristallisierte Cyaninchlorid ist fast unlöslich in Wasser, sehr schwer und langsam in kaltem Alkohol löslich, äusserst schwer in Aceton und Chloroform, unlöslich in Benzol. Auch in verdünnter Salzsäure löst es sich wenig, dagegen ziemlich leicht in verdünnter (etwa 7prozentiger) Schwefelsäure. In Brunnenwasser löst es sich leicht, aber mit blauer Farbe infolge der Bildung von Kalksalz. Um die Reaktionen zu beobachten, löst man das Salz (besser das armorphe Präparat) in Wasser unter Zusatz von wenig Chlorwasserstoff.

In saurer Lösung ist das rote Farbsalz vollkommen haltbar, auch lichtbeständig, in wässriger Lösung wird es rasch entfärbt oder wenigstens stark aufgehellt, besonders rasch beim Verdünnen. Beim Ansäuern kehrt die rote Farbe wieder und zwar quantitativ zufolge den kolorimetrischen Bestimmungen.

Auch die farblose Modifikation ist sehr beständig, sie liefert noch nach langem Aufbewahren den Farbstoff zurück und zwar erhält man auch bei vorsichtigem Eindampfen der wässrigen oder alkoholischen Lösung die rote, violette oder blaue Form des Cyanins wieder, je nachdem das farblose Glucosid aus der einen oder andern durch Isomerisation hervorgegangen war. Durch Erwärmen des Cyaninchlorides mit absolutem Alkohol entsteht gleichfalls die farblose Lösung. Diese gibt mit Bleiacetat eine grüne Fällung und sie wird auf Zusatz von wenig Soda grüngelb, wahrscheinlich durch eine Beimischung von etwas blauem Farbsalz zum gelben Alkalisalz der isomeren Modifikation. Bei raschem Ansäuern schlägt die

Farbe wieder in Rot um. Mit überschüssigem Natriumcarbonat, rascher mit Natronlauge, entsteht eine haltbare gelbe Lösung, die beim Ansäuern nicht mehr rot wird.

Das rote Farbsalz gibt bei Gegenwart von sehr wenig Chlorwasserstoff mit Eisenchlorid ein schönes Violett, in alkoholischer Lösung ein prachtvolles, sehr intensives Blau. Mit überschüssigem Eisenchlorid wird die Flüssigkeit missfarbig, schliesslich gelb.

Von Bleiacetat wird es quantitativ gefällt in schön violettblauen Flocken mit kupfrigem Schimmer. Das (aus dem Cyaninkalium dargestellte) Bleisalz gibt bei der Zersetzung mit Kohlensäure oder bei vorsichtiger Behandlung mit wenig Schwefelwasserstoff eine anscheinend primäres Bleisalz enthaltende schön blaue Lösung, die mit Alkohol fällbar ist. Mit überschüssigem Schwefelwasserstoff wird das Blei vollständig gefällt und der Farbstoff beim Eindunsten in seiner violetten Form erhalten.

Das Cyaninchlorid reagiert mit Alkalien stufenweise. Mit Calciumcarbonat (oder Silbercarbonat) erhalte ich eine schön violette Lösung, die sich besonders rasch entfärbt. Frisch wird sie mit Soda blau und gibt mit Bleiacetat die blaue Fällung; nach kurzem Stehen liefert sie ein grünes Bleisalz und wird nur noch gelbgrün oder gelb mit Natriumcarbonat. In festem Zustand erhielt ich das violette Glucosid beim Eindunsten seiner farblos gewordenen Lösung, es ist in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich.

Mit Natriumcarbonat wird die rote Cyaninlösung durch Violett schön kornblumenblau und bleibt, wenn man Ueberschuss von Soda vermeidet, eine halbe bis ganze Stunde beständig. Mit Alkalilauge verdirbt die Farbe rascher und wird gelb.

Von Zink und Essigsäure wird das Cyaninchlorid reduziert, von Natrimbisulfat wird es sofort entfärbt und durch Säure quantitativ regeneriert.

Das Glucosid reduziert Fehlingsche Lösung gar nicht, nach Kochen mit Mineralsäure natürlich sehr stark.

Hydrolyse des Cyanins.

In der Kälte wird das Glucosid selbst von konzentrierter Salzsäure sehr langsam gespalten, die Hydrolyse war nach acht Tagen nicht beendet. In der Hitze verläuft sie rasch, ich fand dafür 20prozentige Salzsäure besonders geeignet.

1 g. Kryst. Glucosid wird mit 300 ccm. der Säure rasch zum Kochen und dann noch 3 bis höchstens $3^1/_2$ Minuten erhitzt. In einer Minute nach dem Beginn des Siedens ist die Substanz klar gelöst. Schon in der Hitze scheidet sich die Hauptmenge des Cyanidinchlorides in prächtigen Nadeln aus, die nach dem Erkalten von der sehr hellen Mutterlauge abfiltriert, mit 20prozentiger Salzsäure gut ausgewaschen und zwischen Filtriertrierpapier getrocknet werden.

Im Filtrat habe ich die Glucose nach dem Verfahren von G. Sontag[1]) und von G. Bertrand[2]) bestimmt. Das dafür angewandte Glocosid war hochvakuumtrocken.

I. 0,1238 g. Glucosid gaben 0,0630 Glucose
II. 0,2126 g. „ „ 0,1123 „
III. 0,2126 g. „ „ 0,1148 „
IV. 0,22105 g. „ „ 0,11513 „

Berechnet für $C_{28}H_{33}C_{17}Cl$	Gefunden	I	II	III	IV
2 $C_6H_{12}O_6$ 53,2		50,9	52,9	54,0	52,1

Für die polarimetrische Bestimmung war die Zuckerlösung zu verdünnt, das Drehungsvermögen stimmte so genau, als es zu erwarten war, für Traubenzucker. Ich habe diesen mittels des Osazons identifiziert, welches bei 195° sinterte und scharf bei 205° schmolz.

Auch die Ausbeute an Farbstoff stand in Einklang mit der Bildungsgleichung des Cyanidins.

Zu den abfiltrierten Krystallen des Chlorids kam für die quantitative Bestimmung noch eine kleine Menge (1—2 mg.) aus der zuckerhaltigen Mutterlauge hinzu, indem ich sie mit Amylalkohol auszuschütteln und ihn zur Trockne verdampfe.

I. 0,2126 g. Glucosidsalz gaben 0,118 g. Cyanidinchlorid (lufttrocken)
II. 0,22105 g. „ „ 0,11295 g. „ (vakuumtrocken)

Die berechnete Ausbeute ist 52,1, die gefundene 55 und 51 Prozent.

Cyanidinchlorid.

Der Farbstoff krystallisiert in schönen, lebhaft metallglänzenden, langen Nadeln, die man als Wachstumsformen sehr langge-

[1]) Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 19, 447 (1903).
[2]) Bull. Soc.: Chim.: (3) 35,1285 (1906).

zogener rhombenförmiger Blättchen beobachtet. In weniger reinem Zustand, z. B. bei der Gewinnung aus amorphem Cyanin neigt das Chlorid dazu, sichel- und haarartig gebogene Formen zu bilden. Unter dem Mikroskop sind die Krystalle braunrot, auch das Pulver ist braunrot, der Strich dunkelviolett. Beim Erwärmen im Schmelzpunktsapparat sintert die Substanz und zersetzt sich allmählich; sie schmilzt beim Eintauchen in ein Bad von 220° sofort, von 218° allmählich unter Zersetzung, beim Einführen in ein Bad von 200° und weiterem Erhitzen erfolgt Zersetzung ohne Schmelzen.

Das Cyaninchlorid enthält keine Krystallwasser, es ist luftbeständig und bleibt auch im Hochvakuum beim Erwärmen im Acetonbad unverändert; hingegen verliert es Chlorwasserstoff an Wasser.

0,1128 g. gaben 0,22560 CO_2 und 0,04045 H_2O
0,10765 g. „ 0,04210 AgCl (nach Carius)

Berechnet für $C_{16}H_{13}O_7Cl$		Gefunden	I	II
C	54,47		54,55	—
H	3,69		3,98	—
Cl	10,07		—	9,67.

Bei einer weiteren Darstellung wurde der Kohlenstoffgehalt des Chlorides zu niedrig (C. 52,82; H 3,79) und in entsprechendem Masse bei einer Bestimmung der Chlorgehalt zu hoch gefunden (Cl 12,70). Noch eine Darstellung gab Cl = 9,71 (Mikroanalyse) C und H Bestimmung durch Platzen des Rohres unsicher gemacht. Um die Zusammensetzung des Cyanidins festzustellen, ist daher noch eine eingehendere Nachprüfung der Analyse erforderlich, die ich nicht mehr ausführen kann.

Das Cyanidinchlorid ist in Alkohol, auch in Methylalkohol, schon in der Kälte sehr leicht löslich mit wunderschöner violettroter Farbe aber sehr schwer löslich, selbst in der Hitze in verdünnter und in mässig konzentrierter Salzsäure. Man erhält z. B. mit 20prozentiger Salzsäure nur eine 0,001prozentige Lösung. Das Chlorid lässt sich daher gut umkrystallisieren durch Auflösen in Alkohol, vermischen mit dem halben Volumen 7prozentiger Salzsäure und Abdampfen des Alkohols. Auch aus Alkohol allein krystallisiert das Salz schon bei mässig raschem Eindampfen der Lösung.

Das Sulfat ist gleichfalls schwer löslich und scheidet sich aus der warmen Lösung in 7prozentiger Schwefelsäure beim Erkalten reichlich in Krystallen ab. Ferner zeichnet sich das überchlorsauere Salz, das sich in Alkohol sehr leicht löst und beim Eindunsten abscheidet, durch grosse Krystallisationskraft aus; es bildet Drüsen schöner dunkelroter Prismen.

Aus einer (schwefelsaueren) Lösung lässt sich der Farbstoff gar nicht mit Aether, Essigester, Chloroform oder Benzol ausschütteln, ausschliesslich und zwar quantitativ mit Amylalkohol. Auch das krystallisierte Cyanidinchlorid ist in Amylalkohol löslich mit schön violettstichig roter Farbe, die beim Auswaschen mit Wasser und sofort mit Alkaliacetat in schönes Violett umschlägt. Schüttelt man die violette Lösung mit etwas Soda, so geht der Farbstoff mit schön blauer Farbe vollständig in die wässerige Schicht. In der amylalkoholischen Lösung, namentlich einer feuchten, ist der Farbstoff nicht haltbar; in einigen Tagen wird sie braungelb bis braun.

Die Verbindungen mit den Mineralsäuren gehen unter verschiedenen Bedingungen durch Verlust der Säure in den violetten Farbstoff über, der in Alkohol leicht, in Amylalkohol in der Hitze ziemlich leicht, in Aceton auch warm sehr schwer löslich ist. Auch in kaltem Eisessig löst er sich schwer, warmes Wasser wird etwas angefärbt. Die konzentrierte alkoholische Lösung des Cyanidinchlorides gibt beim Versetzen mit viel Wasser in der Wärme eine Ausscheidung der dunkelvioletten Flocken.

Mit Natriumcarbonat liefert das Chlorid in verdünntem Alkohol über Violett eine schöne blaue Lösung (nur dann eine grüne, wenn die farblose Modifikation zugegen ist), mit Kaliumacetat in Alkohol entsteht eine violettblaue Fällung.

Mit Bleiacetat gibt das Cyanidin einen blauen Niederschlag, mit wenig Eisenchlorid in der alkoholischen Lösung eine wunderschöne und beständige, sehr intensive blaue Lösung; in 30prozentigem Alkohol ist die Eisenchloridreaktion violett. Mit überschüssigem Reagens wird die Flüssigkeit missfarbig, dann farblos, weiterhin gelb.

Beim Kochen mit Jodwasserstoffsäure spaltet Cyanidin kein Methyl ab: die Substanz bleibt als Jodhydrat unverändert.

Von Oxydationsmitteln wird der Farbstoff leicht angegriffen, Salpetersäure verwandelt ihn in eine schön krystallisierende, in

Wasser und Aether lösliche Verbindung, die gelb ist und intensiver gelbe Alkalisalze bildet.

Isomerisation zur farblosen Modifikation. Das Cyanidin wird schwerer als Cyanin isomerisiert und die Rückverwandlung der farblosen Form erfolgt auch viel schwieriger. Wenn die Lösung des Chlorides in viel Alkohol mit dem doppelten Volumen Wasser vermischt und einige Minuten gekocht oder besser eine Viertel bis halbe Stunde im Wasserbad von 85° erwärmt wird, so hellt sich die Flüssigkeit auf und wird schwach braungelb. Nur sehr langsam tritt diese Umwandlung in der Kälte ein. Die Lösung wird auf Zusatz von Mineralsäure nicht rot. Erst wenn man sie mit etwas Salzsäure einige Minuten kocht, oder im siedenden Wasserbad erhitzt, kehrt die Farbe quantitativ wieder.

Die entfärbte Lösung gibt mit Soda ein schönes und bleibendes Gelb.

Die farblose Modifikation ist ätherlöslich und nicht erheblich basisch; sie lässt sich nämlich auch aus stark saurer Lösung vollständig ausäthern. Beim Abdampfen des Aethers hinterbleiben farblose Krystalle, die beim Kochen mit verdünnter Säure eine intensiv rote Lösung geben. Lässt man indessen die entfärbte alkoholisch-wässrige Lösung oder ihren ätherischen Auszug längere Zeit stehen, so ist eine zweite, in grösseren Nadeln krystallisierende Verbindung entstanden, die nicht mehr den roten Farbstoff zurückbildet. Diese Unbeständigkeit der farblosen Form ist durch eine freie Hydoxylgruppe bedingt, welche im Cyanin mit Zucker verbunden war.

Eine interessante Umwandlung erleidet das Cyanidin, wenn ich seine alkoholische Lösung mit verdünntem Wasserstoffsuperoxyd anstatt mit Wasser erwärme. Nach der Entfärbung setze ich einige Tropfen verdünnter Salzsäure zu und erhitze im Wasserbad weiter. Die Flüssigkeit wird gelb, durch Extrahieren mit Aether lässt sich ein Produkt isolieren, das schöne hellgelbe Krystalle bildet und mit Alkalien tief gelbe Lösungen liefert.

Absorptionsspektra.

a. Das blaue Cyaninsalz.

Von dreimal umgefälltem Alkalisalz, dessen Reinheitsgrad 25 war, wurden 0,01324 g. in 25 ccm. 16prozentiger Natriumchloridlösung aufgelöst; 1 Mol ist in 5000 Litern enthalten.

Das Spektrum zeigt einen unscharf begrenzten schwachen Streifen im Rot und die Hauptabsorptien im Orange und Gelb bis in die grüne Region hinein. Dieses breite Band teilt sich in dünnerer Schicht in zwei Streifen, gegen Violett hin ist es sehr unscharf begrenzt.

Schicht in mm.	2,5	5	10
Band I	Schatten bei a. 670	681,5 — — 663	683 — 656
„ II	611 . 602 — — 593	626 . . 618 —	633 . . 623 —
„ III	577 — — 562 . 556	549 . 521	521 . . 514

Reihenfolge nach der Intensität: III, II, I.

b. Cyaninchlorid.

Vom krystallwasserhaltigen Chlorid wurden 0,01461 g. in 50 ccm. 7prozentiger Schwefelsäure gelöst d. i. 1 Mol in 2500 Litern.

Die Absorption besteht in einem gegen Violett hin sich ganz allmählich verlierenden breiten Bande, welches einen grossen Teil des grünen und das blaue Gebiet einnimmt.

Schicht in mm.	2,5	5
	549 . 540 — 467 . 462	561 . 553 — 448

c. Cyanidinchlorid.

0,00705 g. in 50 ccm. Alkohol d. i. 1 Mol in 2500 Litern.

Das breite Band ist gegen Rot hin verschoben, so dass es in der gelben Region beginnt und bis in die blaue hineinreicht.

Auf dieser Seite verflacht sich die Absorption allmählich ohne scharfe Begrenzung.

Schicht in mm.	2,5	5	10
	577 — 520 . . . 507	583 — 486	589 — 474

Allgemeiner Ueberblick.

Viele Farbstoffe der Anthocyan-Klasse sind qualitativ untersucht worden, und eine neue Reaktion, wodurch ich zeigte, dass diese Pigmente in der Natur als Glucosid, und nur als Glucosid, vorkommen, wird beschrieben.

Das Pigment der Kornblume (Centaurea Cyanus) ist näher untersucht worden, das Glucosid (Cyanin) — als HCl-Oxoniumsalz — rein und krystallinisch dargestellt und analysiert. Das blaue Kaliumsalz — vielleicht als NaCl-Additionsprodukt — ist krystallinisch erhalten.

Die Spaltung des Glucosides in die Farbekomponente und Glucose ist quantitativ erfolgt, und die Farbekomponente (Cyanidin) — auch als HCl-Oxoniumsalz — rein und krystallinisch erhalten und analysiert.

Die Methoden für den Abbau des Cyanidins sind für weitere Arbeiten gezeigt. — Die Resultate der vorliegenden Abbau-Untersuchungen lassen die Ansicht, dass die Anthocyane ganz nah mit gewissen gelben, in der Natur vorkommenden Pigmenten verwandt sind, vermuten.

Inhaltsübersicht.

Seite

Vita III

Theoretischer Teil.

Zur Geschichte 1
Zur Beschreibung des Anthocyans der Kornblume 4
Gruppen der Anthocyane 6
Isolierung und Analyse des Cyanins 8
Zur Konstitution der Anthocyane 9

Experimenteller Teil.

Die Anthocyanidinreaktion 12
Isolierung des Anthocyans 16
a. Unter Anwendung von Natriumnitrat 16
b. Ohne Zusatz von Salzen 19
Kolorimetrische Bestimmung des Cyanins 20
Reinigung des Cyaninalkalisalzes 22
Darstellung des Cyaninchlorides 24
Beschreibung und Analyse von Cyaninchlorid 26
Hydrolyse des Cyanins 28
Cyanidinchlorid 29
Absorptionsspektra 32
a. Das blaue Cyaninsalz 32
b. Cyaninchlorid 33
c. Cyanidinchlorid 33

Allgemeiner Ueberblick 33